

れなかった[9]。また推定される曝露量では飲料水からの曝露と同程度であった。

PFOA・PFOSの尿中排泄量は1日20ngほどであるが[10]、飲料水や大気からの推定曝露量も10ngほどとなり、近畿地方での高い曝露への一定の関与が示唆された。

今後は曝露と排泄のマスバランスを詳細に検討を行い、この20年間の曝露の増加の原因を明らかにしていくことが必要であると考えられる。

E. 結論

ヒト血清中PFOA濃度はこの20年間で上昇を続けており、また近畿地方において高い値を示した。ヒト血清中PFOS濃度はこの20年間でわずかながら上昇していた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Harada K et al.
Renal clearances of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human, and their species-specific excretion. Environ Res. Available online 18 January 2005 doi:10.1016/j.envres.2004.12.003

Harada K et al.
Airborne Perfluorooctanoate (PFOA) may be a Substantial Source Contamination in Kyoto Area, Japan Bull Environ Contam Toxicol. 2005 Jan, 74(1):64-69

2. 学会発表・その他
第75回 日本衛生学会総会、2005年3

月27-30日

原田浩二、ヒトにおけるペルフルオロオクタン酸(PFOA)とペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の腎クリアランスの調査と薬物動態シミュレーション

米国トキシコロジー学会 (Society of Toxicology) 第44回年次総会、2005年3月6-10日

Renal clearances of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans, and species-specific excretion of these chemicals.

Kouji Harada; K. Inoue; A. Morikawa; T. Yoshinaga; N. Saito; M. Kimura; S. Shimbo; A. Koizumi

第44回 近畿産業衛生学会、2004年11月6日

ヒトにおけるペルフルオロオクタン酸(PFOA)とペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の腎クリアランスと種差の血中濃度に及ぼす影響

原田浩二、井上佳代子、森川亜紀子、吉永侃夫、齋藤憲光、木村みさか、新保慎一郎、小泉昭夫

China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry, 2004 (日中環境化学連合シンポジウム)、2004年10月20-23日

Analytical Method for Perfluorooctanoate (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) in Ambient Air

SASAKI, K., YOSHIDA, T., OZAWA, K., SAITO, N., JIN-Y. H., KOIZUMI, A. Perfluorooctanoate and Perfluorooctane sulfonate Concentrations in Surface Waters in Japan

SAITO, N., SASAKI, K., HARADA, K., KOIZUMI, A.

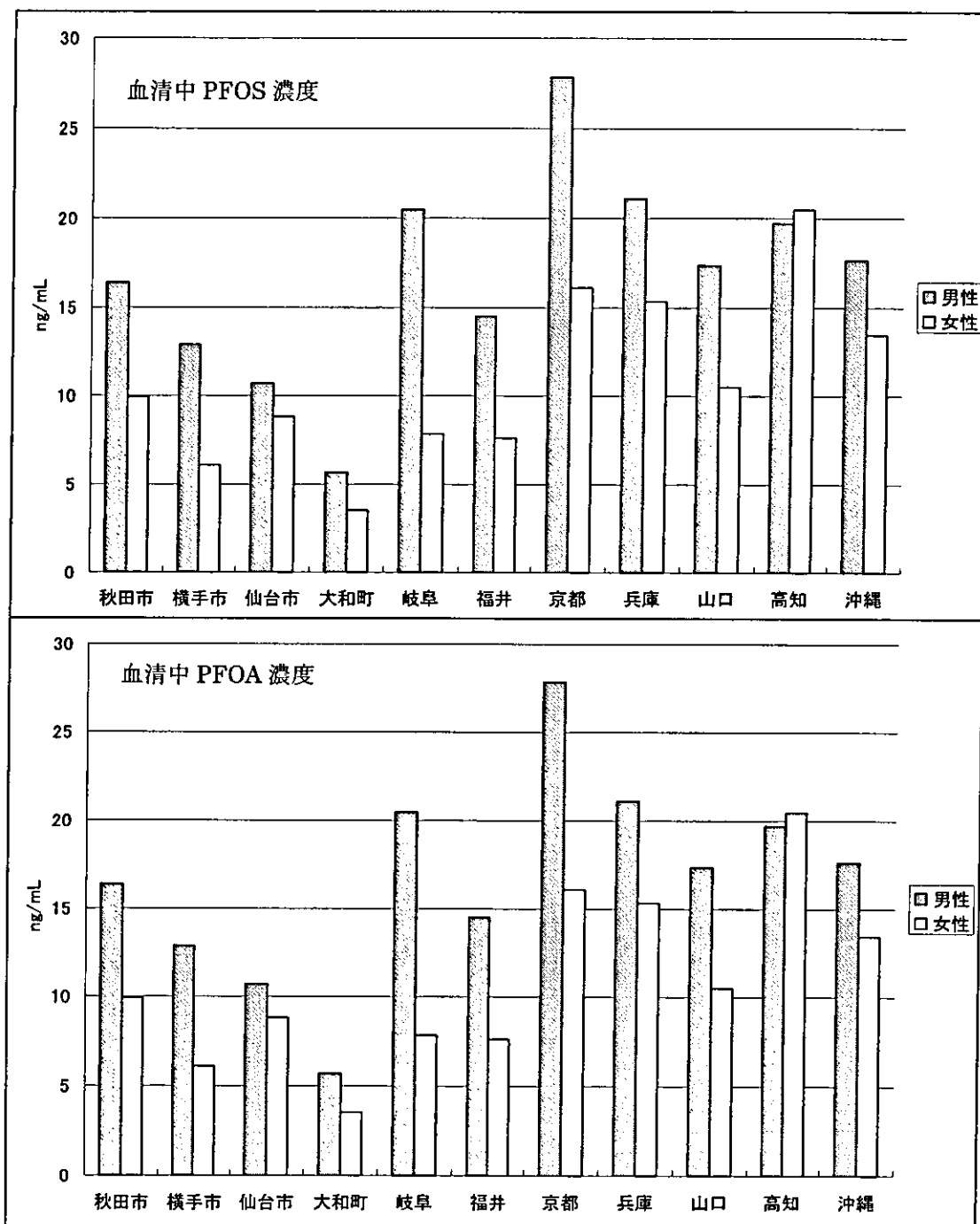


図 3. 国内各地域におけるヒト血清中 PFOS・PFOA 濃度

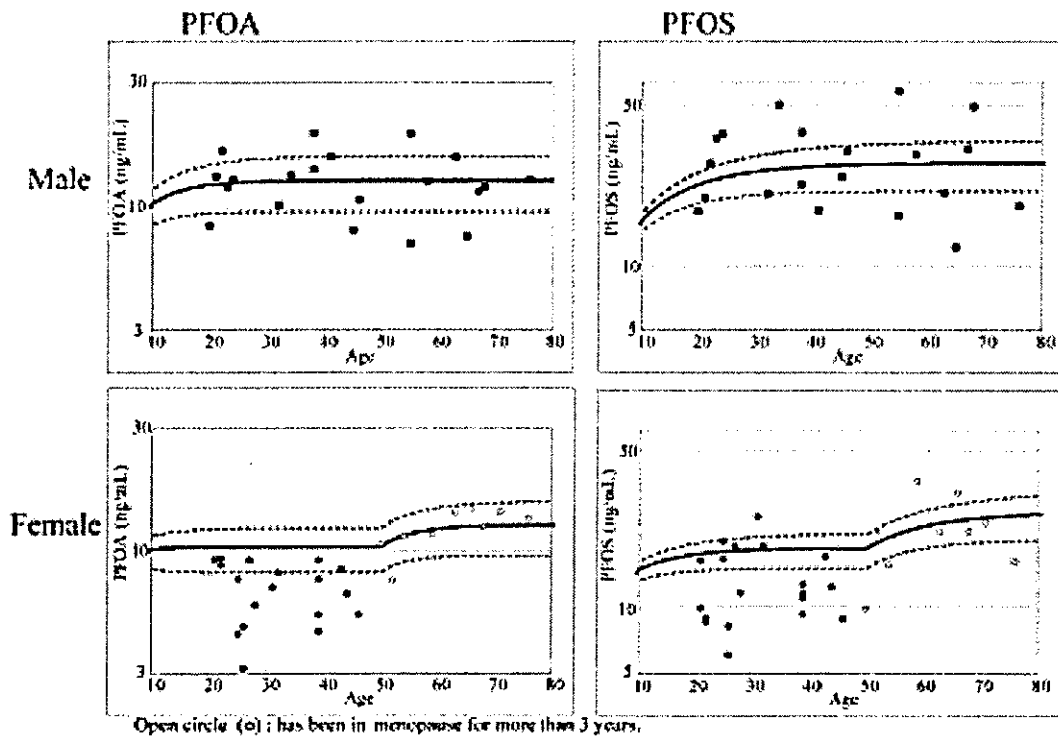


図 4. 京都の男女における血清中 PFOS・PFOA 濃度と年齢の関係
 実線および点線は薬物動態シミュレーションとその半減期の上下させたシミュレーション

第7回 日本水環境学会シンポジウム、
 2004年9月13-14日

PFOS及びPFOAによる環境汚染の現状
 について

佐々木和明、齋藤憲光、金一和、小
 泉昭夫

第77回 日本産業衛生学会、2004年4
 月13-16日

過去25年間にわたるヒト血清中ペル
 フルオロオクタンスルホン酸・ペルフ
 ルオロオクタン酸濃度に及ぼす、時間、
 性、地理的要因の影響

原田浩二、井上佳代子、吉永侃夫、
 渡辺孝夫、小泉昭夫

H. 知的財産権の出願・登録状況
 (予定を含む)

1. 特許取得
 なし

2. 実用新案登録
 なし

3. その他
 なし

I. 文献

[1] A. Wood, and W. Clarin, 3M to
 phase out PFOS, Chem Week 162
 (2000) 9-9.

[2] K. Kannan, S. Corsolini, J.

- Falandysz, G. Oehme, S. Focardi, and J. P. Giesy, Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas, *Environ Sci Technol* 36 (2002) 3210-3216.
- [3] K. Kannan, J. C. Franson, W. W. Bowerman, K. J. Hansen, P. D. Jones, and J. P. Giesy, Perfluorooctane sulfonate in fish-eating water birds including bald eagles and albatrosses, *Environ Sci Technol* 35 (2001) 3065-3070.
- [4] G. W. Olsen, T. R. Church, E. B. Larson, G. van Belle, J. K. Lundberg, K. J. Hansen, J. M. Burris, J. H. Mandel, and L. R. Zobel, Serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in an elderly population from Seattle, Washington, *Chemosphere* 54 (2004) 1599-1611.
- [5] G. W. Olsen, T. R. Church, J. P. Miller, J. M. Burris, K. J. Hansen, J. K. Lundberg, J. B. Armitage, R. M. Herron, Z. Medhdizadehkashi, J. B. Nobiletti, E. M. O'Neill, J. H. Mandel, and L. R. Zobel, Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of american red cross adult blood donors, *Environ Health Perspect* 111 (2003) 1892-1901.
- [6] K. Harada, N. Saito, K. Inoue, T. Yoshinaga, T. Watanabe, S. Sasaki, S. Kamiyama, and A. Koizumi, The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years, *J Occup Health* 46 (2004) 141-147.
- [7] N. Saito, K. Harada, K. Inoue, K. Sasaki, T. Yoshinaga, and A. Koizumi, Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, *J Occup Health* 46 (2004) 49-59.
- [8] G. W. Olsen, H. Huang, K. J. Helzlsouer, K. J. Hansen, J. Butenhoff, and J. H. Mandel, Historical Comparison of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorooctanoate and Other Fluorochemicals in Human Blood, *Environ Health Perspect* (2005).
- [9] K. Harada, S. Nakanishi, N. Saito, T. Tsutsui, and A. Koizumi, Airborne perfluorooctanoate may be a substantial source contamination in Kyoto area, Japan, *B Environ Contam Tox* 74 (2005) 64-69.
- [10] K. Harada, K. Inoue, A. Morikawa, T. Yoshinaga, N. Saito, and A. Koizumi, Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion, *Environ Res* (2005).

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

PFOS及びPFOAの分析法開発

分担研究者 齋藤 憲光 岩手県環境保健研究センター部長

研究要旨

難分解性パーフルオロ化合物は、世界中のヒトや生物から検出される点で特異的な汚染物質である。本研究目標である POPs の「ヒト曝露の評価と動向予測」を行う上で、FOCs は最適な汚染物質である。

今回は、FOCs 中の PFOS 及び PFOA の分析法開発を分担した。分析対象としたのは、尿・食事・血液などである。その結果、尿については LC/MS を用いてルーチン分析にも適用できる方法を開発できた。

昨年度は、血液中 PFOS 及び PFOA を絶対検量線法で測定したが、今年度は内標準で補正する方法に改良を行った。食事は、妨害成分からの FOCs 抽出および精製が困難であり、分析操作上のブランクを低減する方法について開発を継続中である。

A. 研究目的

パーフルオロオクタンスルフォネート (perfluorooctane sulfonate:PFOS) は、人工的に合成された有機フッ素系化合物 (fluorinated organic compounds : FOCs) で、「環境中で分解し難い」という難分解性化合物の性状と、「水を弾くと同時に油を弾く」という特殊な性質を有する。この便利な特性のために人類は、1950年代から現代文明の様々な日用品の中で幅広く多量に使用してきた。

現在、調査した世界中のヒトや多種類の野生生物から検出され¹⁻³⁾、環境中での挙動から生体影響まで、早急に解明しなければならない汚染物質である。

FOCs 測定は、LC/MS^{1),4)} 又は LC/MS-MS⁵⁻⁶⁾ を用いて行われる。現在までに、分析されてきた試料は、ヒト及び野生生物の血液や臓器⁷⁻¹⁰⁾、環境

水¹¹⁻¹³⁾、底質、大気¹⁴⁻¹⁵⁾などである。従って、ヒト曝露におけるリスク評価¹⁶⁾を行う上で、分析方法開発が不十分である。

昨年度に引き続き、今回は当研究班が「POPs のリスク評価にむけてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンクの創設に関する研究」が目標として掲げた「ヒト曝露の評価と動向予測」を行うために、尿中及び食事中 PFOS とパーフルオロオクタノエート (perfluorooctanoate:PFOA) の分析法開発と測定を分担した。その結果、尿については、100mL の試料を用いて分析し、ppt (ng/L) 濃度レベルの PFOS 及び PFOA を精度良く測定する分析法を開発することができた。食事については、分析操作上のブランクの問題が解決されず、検討中である。血液の分析法については、より万全を期して、内標準による補正法に改良した。以上のことについて、報告する。

表1 LC/MSの分析条件

HPLC		MS	
Instrument	: Agilent 1100	Instrument	: Agilent 1100MSD SL
Column	: Zorbax XDB C-18(2.1x150mm)	Ionization	: ESI
Mobile phase ¹⁾	: A: CH ₃ CN B: 10mM CH ₃ COONH ₄ /H ₂ O 35% A-(linear gradient 2% A/min)-45% A	Nebulizer	: N ₂ (50 psi)
Flow rate	: 0.2 mL/min.	Drying gas	: N ₂ (10.0L/min, 350°C)
Oven temp	: 40°C	Polarity	: Negative
Injection volume	: 10.0 μL	Fragmentor	: 100V(PFOA), 200V(PFOS)
		Vcap	: 4000V
		SIM(m/z)	: Q ₁ :499, Q ₂ :500, Q ₃ :99 (PFOS) : Q ₁ :413, Q ₂ :369 (PFOA)

1) gradient: the proportion of A was 35% for the first 5 min; then increased to 45% ; then 45% A was maintained till 20 min.

B. 研究方法

1. 試薬及び材料

1) PFOS 及び PFOA 標準: PFOS は Fluka 社の Perfluorooctansulfonic acid Potassium salt (F.W. 538.22) を、PFOA は WAKO 社の Perfluorooctanoic acid (F.W. 414.07) を用い、それぞれを脱イオン水に溶解して 1,000 mg-C₈F₁₇SO₃⁻/L 及び 1,000 mg-C₇F₁₅CO₂⁻/L にしたものを原液として用いた。この原液を使用時に適宜希釈し、標準系列の作成と標準の添加回収実験に使用した。

2) 固相カートリッジ: スチレンジビニルベンゼン-ポリメタクリレートを充填し、高密度ポリエチレンでハウジングした和光純薬製 Presep-C Agri (250 mg) を捕集用とし、アルミナを充填した Presep-C Alumina をクリーンアップ用固相カートリッジとしてそれぞれ使用した。これらのカートリッジは、5ml のメタノールと 5ml の脱イオン水で洗浄してから用いた。

3) 脱イオン水: 標準系列の調製及び固相カートリッジや器具類の洗浄に用いた脱イオン水は、Presep-C Agri を通し PFOS を除去してから使用した。

4) その他の試薬: メタノールは WAKO 社の HPLC 用を、アセトニトリルは関東化学社の高速液体クロマト用

を使用した。血液分析に用いたイオンペア試薬の Tetrabutylammonium hydrogen sulfate は ACROS 社 HPLC グレードを、抽出溶媒の Methyl tert-butyl ether は WAKO 社の HPLC 用をそれぞれ使用した。

2. 抽出と濃縮

尿からの抽出及び濃縮は、固相カートリッジを Waters Concentrator System Concentrator Plus に装着し、10 mL/min の流量で試料を通過させて行った。

食事は、高速溶媒抽出用セル (33mL) に充填し、粉塵と同様に高速溶媒抽出装置 (DIONEX ASE-200) で PFOS 及び PFOA 抽出を行った。

3. 分析機器

PFOS 及び PFOA の分析は、Agilent 1100 HPLC に Agilent 1100MSD SL 質量分析装置を装着して用いた。

C. 研究成果

1. LC/MS 分析条件

PFOS 及び PFOA を同時分析する際の、LC/MS 最適条件を表 1 に示した。LC の分離カラムは Zorbax XDB C-18 (2.1 × 150mm) を、溶離液はアセトニトリル-10mM 酢酸アンモニウム溶液を用いた。MS のフラグメント電圧は

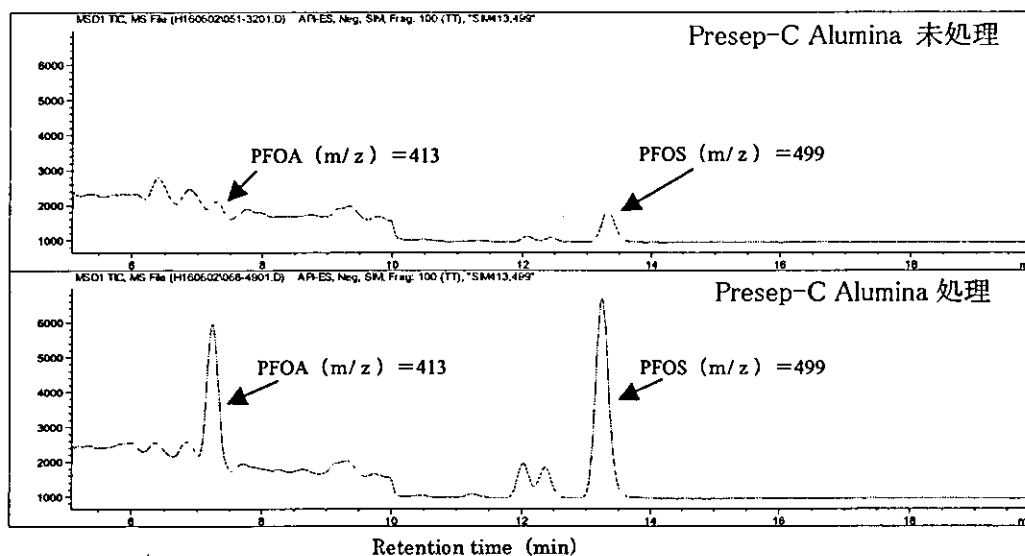


図1 尿中 PFOS 及び PFOA の LC/MS クロマトグラム

上段:Presep-C Alumina 未使用、下段:Presep-C Alumina 使用

PFOS (200V)・PFOA (100V)、Vcap 電圧は 4000V とし、negative の SIM mode [PFOS (Q_1 : 499, Q_2 : 500, Q_3 : 99)・PFOA (Q_1 :413, Q_2 : 369)]で分析した。

LC/MS 測定時の PFOS 及び PFOA は、ピークが重なり合うことなく完全に分離し、検量線の作成濃度はいずれの化合物も $0.1 \mu\text{g/L}$ 以上の濃度で作成可能であった。 $0.1 \mu\text{g/L}$ 濃度の MS クロマトグラム上での S/N 比から算出した検出限界は、PFOS が $0.04 \mu\text{g/L}$ 、PFOA が $0.05 \mu\text{g/L}$ であり、定量下限値は PFOS 及び PFOA とともに $0.1 \mu\text{g/L}$ 濃度とした。

2. 尿分析

尿中 PFOS 及び PFOA は、ヒト血清の濃度と比べて低濃度である。LC/MS で測定する場合、機器の感度から判断して、濃縮と生成の操作が不可欠である。ppt 濃度レベルの環境水分析では、分析操作上のコンタミネーションを低

減し、かつ簡便に効率よく PFOS を抽出・精製する方法として、固相カートリッジが有効であった。そこで最初、環境水分析で用いた Presep-C Agri の固相カートリッジについて検討した。尿をガラスフィルター (ADVANTEC, GA100, $1.0 \mu\text{m}$) でろ過後、100mL を分取して、ガラスシリンジを用いて Presep-C Agri 固相カートリッジを通して PFOS を抽出した。5mL の脱 PFOS 水で洗浄し、固相カートリッジの精製を行った。抽出した PFOS は、3mL メタノールを通して溶出し、窒素パーズしながら 1mL 定容として、LC/MS 測定用の検液とした。LC/MS で分析した際の、尿のクロマトグラフを図 1(上段) に示した。PFOS のピークは定量可能であるが、PFOA は尿成分の夾雑物由来で生ずるベースラインに隠れてしまい、分析を行うことができなかった。更に、クリーンアップ法について検討した結果、Presep-C Alumina カートリッジ

表2 尿中 PFOA・PFOS 分析における繰り返しのある添加回収実験

No.	濃度 ¹⁾		添加回収濃度 ²⁾		回収率	
	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA (%)	PFOS (%)
1	3.08	7.64	41.6	47.4	77.3	79.9
2	2.64	7.84	45.2	45.4	84.5	75.9
3	3.1	7.18	39.8	45	73.7	75.1
4	3.08	7.24	44.4	47.4	82.9	79.9
5	2.92	7.3	44	50	82.1	85.1
平均	2.96	7.44	43	47.04	80.07	79.2
S.D.	0.20	0.29	2.24	1.99	4.47	3.98
CV(%)	6.59	3.84	5.20	4.23	5.59	5.03

1)同一の尿を分析(100mL)

2)添加量:50ng/L

が、分析時に妨害となる夾雑物の除去に有効であった。Presep-C Aluminaでのクリーンアップ操作を導入した分析操作フローを図2に、LC/MSクロマトグラフを図1(下段)に示した。この際に得られたクロマトグラフは、PFOA付近のバックグラウンドが低減し、PFOAとPFOSの形状もシャープで、これら2成分の同時定量が可能な状態であった。

図2の分析操作フローに従い、同一の尿による5回の繰り返し添加実験を行った(表2)。この実験に用いた尿の濃度は、PFOAが2.96ppt、PFOS

食事分析の検討は、コンビニエンスストアで購入したトンカツ弁当に、200mLの市販ウーロン茶を添加して、ホモジナイズしたもので行った。10gの食事試料を秤量して円筒ろ紙(ADVANTEC, 88R, 20x90mm, シリカ繊維)に入れ、-30℃で冷凍後、凍結乾燥を行った(24時間)。凍結乾燥した食事試料からの抽出操作には、高速溶媒抽出を用いた。ステンレス製33mLの抽出セル(φ:20mm, Height 120mm)に、入り口用のエンドキャップを取り付けてセルロースフィルター(Dionex, Size 1.983cm)を挿入し、珪藻土(Dionex, Hydromatrix™) 5gを入れ

が7.44pptであった。各50ng/L濃度のPFOA及びPFOSを添加した尿試料の平均回収率は、PFOAが80.1%、PFOSが79.2%と良好な結果であった。本法は、Presep-C Agriで抽出後、Presep-C Aluminaで尿中の脂肪族炭化水素などをクリーンアップする分析法である。分析操作上のコンタミネーションを低減し、操作が簡便で、再現性に優れた本法は、ルーチン分析にも有効な分析法である。

3. 食事分析

てエボナイト棒(cell filter instillation tool)で押しながら珪藻土(Dionex, Size 1.983cm)を挿入し、珪藻土(Dionex, Hydromatrix™) 5gを入れてエボナイト棒(cell filter instillation tool)で押しながら珪藻土を粉砕し、均一な状態にした。この上に、円筒ろ紙(凍結乾燥した食事試料)、セルロースフィルターの順に載せて、エボナイト棒で押し込みながら凍結乾燥した試料を均一な状態にした。更に、活性アルミナ粉末(ICN Biomedicals GmbH, ICN Alumina B, Aki.1) 10gを入れ、その上に珪藻土1gとセルロースフィルタ

一を載せ、エボナイト棒で均一な状態に押し込んだ。出口用のエンドキャップを取り付け、入り口用エンドキャップをはずしてエボナイト棒で逆に押しながら、上部に溶媒拡散が均一に行える空間(約 5mm)を確保してから、入り口用エンドキャップをセットした(図3)。抽出セルをオートサンプラーのトレイにセットし、表3の抽出条件に従って、100%メタノールで2回の溶媒抽出を行った。

水で約 800mL に希釈した。

Presep-C Agri カートリッジカラムをコンセンレーターにセットし、この希釈したメタノール溶液を通過させて、PFOS の固相抽出を行った。固相カートリッジを、アスピレーターで吸引しながら風乾後、捕集された PFOS を 2mL メタノールで溶離し、窒素をパージして 1mL 溶液にしてから LC/MS で分析を行った(図4)。

60mL バイアル瓶に捕集した抽出液(約 50mL)を No. 5C でろ過後、約 10%以下のメタノール液になるように脱 PFOS

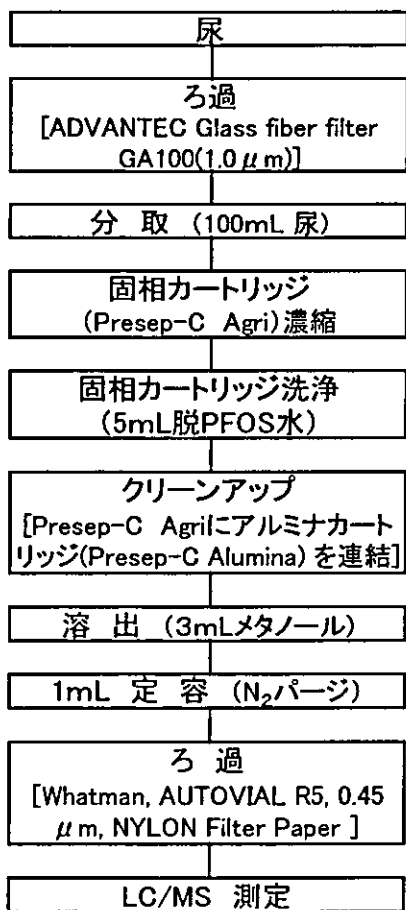


図2 尿分析フローシート

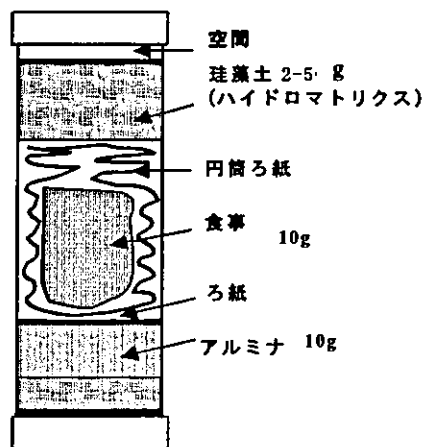


図3 高速溶媒抽出反応セル充填

表3 食事の高速溶媒抽出条件

Instrument	: DIONEX ASE-200
Cell size	: 33 mL
Oven temperature	: 100 °C
Pressure	: 1,500 psi (=10.5MPa)
Static time	: 10 min
Flush volume	: 80 % of extraction cell volume
Solvent	: methanol 100% solution
Nitrogen purge	: 150 psi (=1MPa) for 120sec.
Extraction cycle	: twice

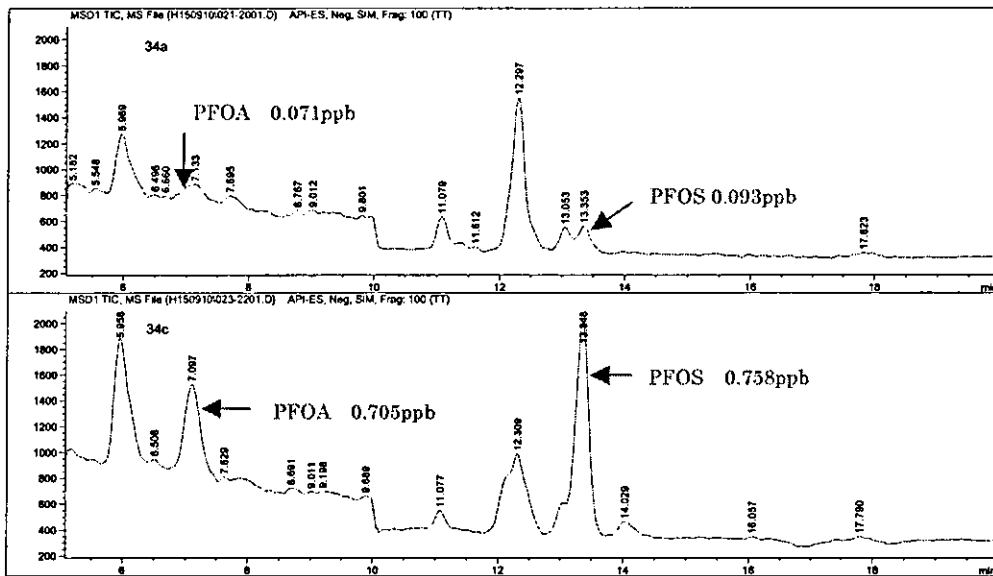


図4 食品中 PFOS 及び PFOA の LC/MS クロマトグラム

上段:無添加の食事、下段:標準添加した食事

図5の操作フローに従って、食事を分析した際の、LC/MS クロマトグラムを図に示した。食事のみ(上段:標準無添加)のクロマトグラムでは、PFOS 及び PFOA のピークは、夾雑物由来の乱れたベースラインに消えてしまい、定量可能な状態ではなかった。標準添加した食事(下段:1ppb 添加)では、ピークの形状はシャープで定量

可能な状態で、PFOS が 67%、PFOA が 63%の回収率であった。PFOS について、6 回の繰り返しのある添加回収実験を行った(表4)。その結果、平均回収率は 80%と良好なもの、回収実験のデータで異常に高い値が出現し、分析操作由来のブランクをコントロールできていないことが判明した。

表4 食事中PFOS分析における繰り返しのある添加回収実験¹⁾

No.	濃度 (ng/Kg)	回収量 ²⁾ (ng/Kg)	回収率 ³⁾ (%)
1	26	1351*	-
2	28	829	80
3	26	855	83
4	28	782	75
5	30	838	81
6	27	853	83
平均	27.5	831.4	80.4
S.D.	1.52	29.64	2.96
CV(%)	5.51	3.56	3.69

1) 同一の食事を分析(100mL)

2) 添加量:1000ng/Kg

3) 回収率 = (回収量 - 27.5) x 100/1000

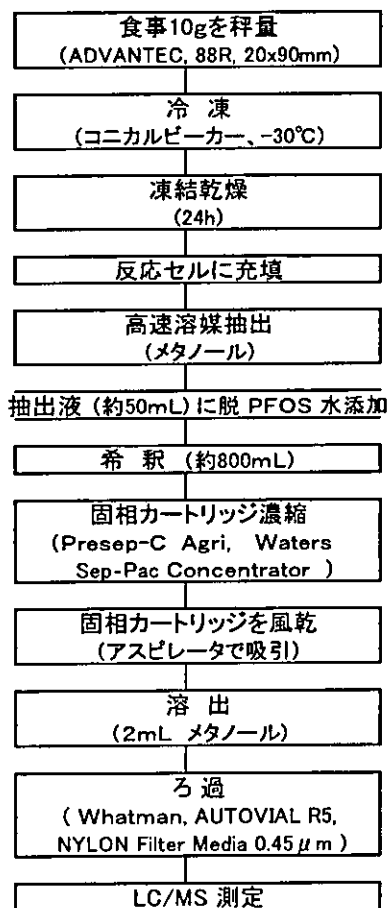


図5 食事分析フローシート

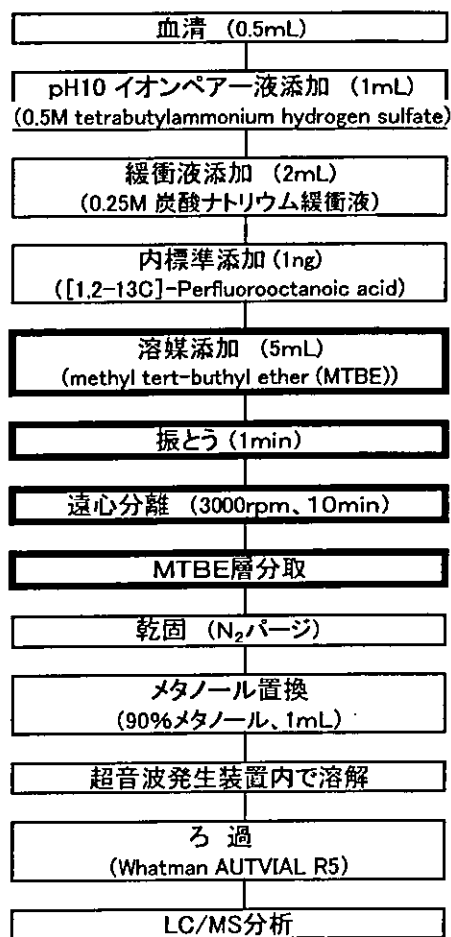


図6 血液分析フロー

*: 太字枠内は2回繰り返し操作

4. 血液（血清）分析

ppt (ng/L) 濃度の環境水や尿と比べて、ヒト血清の濃度は、ppb ($\mu\text{g/L}$) の高濃度である。従って LC/MS の機器の感度と比較しても、血液の濃度は十分に高濃度で、LC/MS で測定する際に分析操作由来のブランクを懸念する必要がない。更に、Johnson らが開発した、イオンペア試薬を用いて PFOS 類を溶媒抽出する方法は、分析法としての完成度が高く、昨年度に報告した分析法開発では、長時間連続運転しても LC/MS がシャットダウンしないような改良にとどめた。定量は、絶対検量線法で求めたが、今回は図 6 に示したように、[1,2- ^{13}C]-Perfluorooctanoic acid (M. F. : $\text{C}_8\text{HF}_{15}\text{O}_2$) を内標準として用いる方法に改良を行った。濃度が高い血液分析では、内標準を用いるメリットは小さいが、低濃度の試料では、抽出率を補正できる点で、確実性が増すと考えられる。

D. 考察

1. LC/MS 分析

LC/MS/MS に比べて、本法で使用した LC/MS は定性能力に欠けるといふ欠点がある。反面、LC/MS は操作性に優れているという長所がある。これまでに分析法開発を行った、血液、環境水、大気、尿では、LC/MS で十分に測定可能であったが、今後は、LC/MS/MS による分析法開発の必要性があると考えられる。

2. 尿分析

尿中 FOCs を分析した例は、これまで報告されていない。今回、Presep-C Agri の固相カートリッジで PFOS 及び PFOA を捕集し、Presep-C Alumina で脂質成分を除去し精製する分析方法

の開発を行った。市販のカートリッジを組み合わせたが、尿などの汚れた試料を分析する上で、手軽に利用できる利点がある。更に、分析操作上のブランクやエラーを最小限にできたことが、ppt レベルの生体試料の分析を可能にした。

本法の回収率は、PFOS が 79.2% で PFOA が 80.1% と良好で、モニタリング分析に適用可能な分析法であることが確認された。

3. 食事分析

食事を分析した報告はない。食事分析の困難さは、食事が多量の水溶性化合物と脂溶性の組成からなることに起因する。極性の高い条件で FOCs を抽出すると、多量のデンプンが混入し、精製が困難である。同様に、極性の高い抽出条件では、同時に抽出される脂質を精製することが極端に困難になる。

今回は、操作ブランクを最小限にする方法として、高速溶媒抽出装置で抽出操作を行った。本法は、各 1ppb 濃度の標準を添加した食事試料には、十分に適用可能であることが証明された。しかし、実際の食事中 FOCs 濃度は、操作ブランクレベルであり、このことが一定の値にコントロールできないブランクのために、食事分析を難しいものとしている。

今後の課題は、操作ブランクの低減と、LC/MS/MS での検討であり、継続して開発に取り組みたい。

4. 血液分析

血液の分析法は、これまで報告されているイオンペア試薬を用いた溶媒抽出を用いる方法が、分析精度と再現性に優れていた。前年度の報告で、この方法を検証し、不純物をろ過する

操作を加えて、LC/MSがシャットダウンする事故に備える改良を行った。基本的に、血液分析に対しては、昨年度に報告した分析方法で十分であるが、今年度は[1,2-13C]-Perfluorooctanoic acid (M.F.: $C_8HF_{15}O_2$)の内標準で補正する方法に変更した。

E. 結論

これまでは、3M社の関連会社からの提供を受けた研究者だけが、内標準による補正法で分析することが可能であった。今回、EPAの研究者から[1,2-13C]-Perfluorooctanoic acid内標準の提供を受け、分析法に取り入れることが可能となった。今年度報告した、分析データは、すべて内標準補正法で測定したものである。

文献

- 1) G. W. Olsen, J. M. Burris, J. H. Mandel, L. R. Zobel : Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees, *J. Occup. Environ. Med.*, 41, 799-806 (1999)
- 2) K. J. Hansen, L. A. Clemen, M. E. Ellefson, H. O. Johnson : Compound-specific, Quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices, *Environ. Sci. Technol.* 35, 766-770 (2001)
- 3) J. P. Giesy, K. Kannan : Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife, *Environ. Sci. Technol.* 35, 1339-1342 (2001)
- 4) N. Saito, K. Sasaki, K. Nakatome, K. Harada, T. Yoshinaga, A. Koizumi : Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 45, 149 (2003)
- 5) C. Sottani, C. Minoia : Quantitative determination of perfluorooctanoic acid ammonium salt in human serum by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 16, 650-654 (2002)
- 6) K. Kannan, J. Koistinen, K. Beckmen, T. Evans, J. F. Gorzelany, K. J. Hansen, P. D. Jones, E. Helle, M. Nyman, J. P. Giesy : Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals, *Environ. Sci. Technol.* 35, 1593-1598 (2001)
- 7) K. Harada, N. Saito, K. Inoue, T. Yoshinaga, T. Watanabe, S. Sasaki, S. Kamiyama, A. Koizumi : The influence of time, sex, and geographic factors of levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years, *J. Occup. Health*, 46, 141-147 (2004)
- 8) G. W. Olsen, T. R. Church, J. P. Miller, J. M. Burris, K. J. Hansen, J. K. Lundberg, J. B. Armitage, R. M. Herron, Z. Medhdizadehkashi, J. B. Nobiletti, E. M. O' Neill, J. H. Mandel, L. B. Zobel : Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of American Red Cross adult

- blood donors, *Environ. Health Perspect.*, 111, 1892-1901 (2003)
- 9) K. Kannan, J. W. Choi, N. Iseki, K. Senthilkumar, D. H. Kim, J. P. Giesy : Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea, *Chemosphere*, 49, 225231, (2002)
- 10) K. I. Van de Vijver, P. T. Hoff, K. Das, W. Van Dongen, E. L. Esmans, T. Jauniaux, J. M. Bouquegneau, R. Blust, W. de Coen : Perfluorinated chemicals infiltrate ocean waters: link between exposure levels and stable isotope ratios in marine mammals, *Environ. Sci. Technol.*, 37, 5545-5550 (2003)
- 11) N. Saito, K. Harada, K. Inoue, K. Sasaki, T. Yoshinaga, A. Koizumi : Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, *J. Occup. Health*, 46, 49-59 (2004)
- 12) C. A. Moody, W. C. Kwan, J. W. Martin, D. C. Muir, S. A. Mabury : Determination of perfluorinated surfactants in surface water samples by two independent analytical techniques: liquid chromatography/ tandem mass spectrometry and ¹⁹F NMR, *Anal. Chem.*, 73, 2200-2206 (2001)
- 13) C. A. Moody, J. W. Martin, W. C. Kwan, D. C. Muir, S. A. Mabury : Monitoring perfluorinated surfactants in biota and surface water samples following an accidental release of fire-fighting foam into Etobicoke creek, *Environ. Sci. Technol.*, 36, 545-551 (2002)
- 14) H. F. Schroder : Determination of fluorinated surfactants and their metabolites in sewage sludge samples by liquid chromatography with mass spectrometry and tandem mass spectrometry after pressurized liquid extraction and separation on fluorine-modified reversed-phase sorbents, *J. Chromatogr. A.*, 1020, 131-151 (2003)
- 15) Sasaki K, Harada K, Saito N, Tsutsui T, Nakanishi S, Tsuzuki H, Koizumi A (2003) Impact of airborne perfluorooctane sulfonate on the human body burden and the ecological system. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71: 408-413
- 16) J. W. Martin, D. C. Muir, C. A. Moody, D. A. Ellis, W. C. Kwan, K. R. Solomon, S. A. Mabury : Collection of airborne fluorinated organics and analysis by gas chromatography/ chemical ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 74, 584-590 (2002)
- 17) Harada K, Saito N, Sasaki K, Inoue K, Koizumi K, (2003) : Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: Estimated effects on resident serum levels., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71, 31-36.
- F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Harada, N. Saito, K. Inoue, T. Yoshinaga, T. Watanabe, S. Sasaki, S. Kamiyama, A. Koizumi: The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years, J Occup Health, 46, 141-147 (2004)

2. 研究発表

- 1) N. Saito, K. Sasaki, K. Harada, A. Koizumi: Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, Proceedings of China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry, Beijing, 21-23, October 2004
- 2) K. Sasaki, T. Yoshida, K. Ozawa, N. Saito, Y. Jin, A. Koizumi: Analytical method for perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) in ambient air, Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, Proceedings of China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry, Beijing, 21-23, October 2004
- 3) Y. Jin, H. Qin, Y. Fan, Y. Ma,

Y. Zhang, G. Dong, N. Saito: The status of perfluorooctane sulfonate pollution in water environment and human body in China, Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, Proceedings of China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry, Beijing, 21-23, October 2004

- 4) Y. Fan, Y. Ma, Y. Zhang, X. Zhang, H. Qin, B. Huang, G. Dong, Y. Jin, N. Saito: Effects of perfluorooctane sulfonate on spermiogenesis function of male rats, Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan, Proceedings of China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry, Beijing, 21-23, October 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
 分担研究報告書

PFOS・PFOA の処理方法の検討

分担研究者 藤井 滋穂 京都大学大学院工学研究科教授

研究要旨

本研究では、PFOS、PFOA の処理方法として吸着に着目し、その処理性の基本特性を低濃度レベルで検討した。LC/MS による PFOS、PFOA の定量方法を検討し、濃縮操作なしに 1~100 $\mu\text{g/L}$ での定量が可能となった。低濃度 PFOS、PFOA の吸着特性については、吸着材として活性炭を用いて回分実験により検討した。その結果、活性炭により PFOS、PFOA が短時間・高効率で吸着されることを見出した。

A. 研究目的

本研究では、PFOS、PFOA の処理方法として吸着処理に着目し、PFOS、PFOA の基本的吸着特性を低濃度レベルで検討することを目的とした。

た。PFOS については 3 日間攪拌し溶解させたものを標準原液とし、液体クロマトグラフ質量分析装置(LC/MS/MS、TSQ7000、ThermoQuest 社、トリプルステージ四重極型 MS/MS システム) の LC/MS モードで測定した。

B. 研究方法

HPLC/MS による PFOS、PFOA の定量
 低濃度の PFOS、PFOA の定量方法を検討するため、PFOS ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_7\text{SO}_3^-$, Wako 508-53921, perfluorooctane sulfonic acid potassium salt, 98%)、PFOA ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_6\text{COO}^-$, Wako163-09542, perfluorooctanoic Acid, 95%) を、それぞれ精製水に溶かし

表1 測定条件一覧

システム		UMA	
HP LC	種類	Agilent Zorbax XDB C-18	
	径(mm)	2.1	
	長さ(mm)	150	
	温度(°C)	室温	
	流量($\mu\text{L}/\text{min}$)	100	
	インジェクション量(μL)	20	
	移動相	種類	A: 10mMCH ₃ COONH ₄
グラジエント*	3分	50	50
	3→9分	50→0	50→100
	9分	0	100
MS	マススペクトル	TSQ7000	
	イオンソース	ESI	
	モード	SIM	
	乾燥ガス温度(°C)	250	
	極性モード	Negative	
	イオンソース電圧(V)	-4200	
	リテンションタイム(min)	PFOS 約8.5分, PFOA 約5.8分*	
m/z	PFOS 499, PFOA 413		

*PFOA測定ではグラジエントは行わず、A:B=50:50

PFOS、PFOA の測定条件を表 1 に示す。LC/MS のイオン化条件設定では、100 μ g/L の標準液を用いて、ESI Negative Ion 法により次の条件で測定した。移動相には、10mM 酢酸アンモニウムとメタノールを用い、PFOS の測定ではグラジエントによりリテンションタイムが約 12 分短縮された。PFOA に関しては、リテンションタイムが約 6 分と短いためグラジエントを行わなかった。流速は 0.1mL/min でインジェクション方法は 20 μ L のループインジェクションを採用した。分子イオンの確認では、scan モードで $m/z=350\sim$

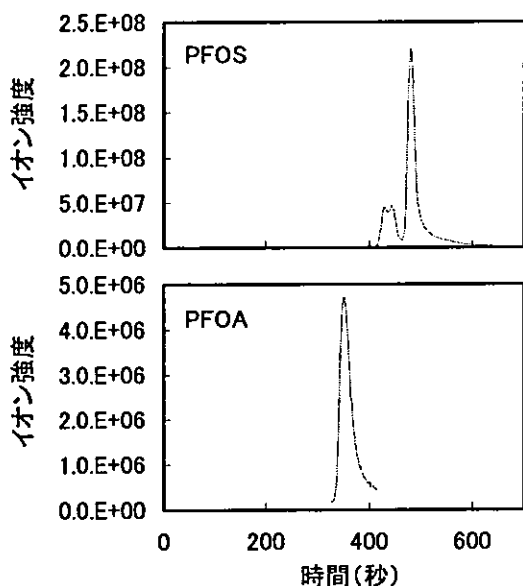


図1 PFOS、PFOA(100 μ g/L)のクロマトグラム (HPLC/MC使用)

550 において、PFOS[M-H]⁻=499 と PFOA[M-H]⁻=413 を確認した。その他、キャピラリーチューブ温度、イオンソース電圧等の最適値を検討した。

100 μ g/L の PFOS、PFOA のクロマトグラムを図 1 に示す。リテンションタイムは、PFOS が約 8.5 分、PFOA が約 5.8 分であった。PFOS、PFOA の検量線を図 2 に示す。両物質とも 10 μ g/L で少し高いイオン強度を示したが、ほぼ直線関係にある

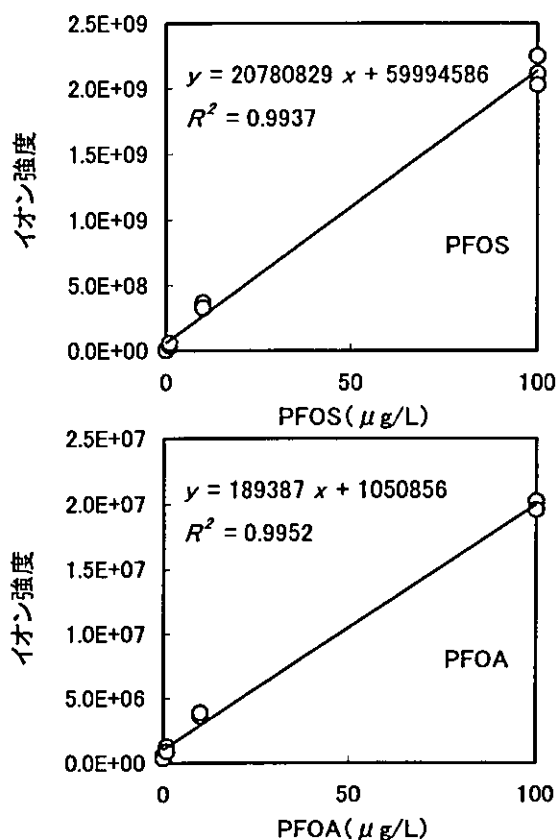


図2 PFOS、PFOAの検量線(HPLC/MC使用)と判断し、以降の解析を進めた。

C. 研究結果

活性炭による吸着回分実験

最初に対象物質溶液 (10 mL)、活性炭懸濁液+精製水 (合わせて 10 mL)、リン酸緩衝液 (0.061MKH₂PO₄、0.031MK₂HPO₄) (10 mL) 合計 30 mL を 51 mL 容量の BOD 瓶に入れ、恒温振とう器 (EYELA UNI Thermo shaker NTS-1300s) により、25°C、pH7.0、振とう速度 120 rpm の条件で実験

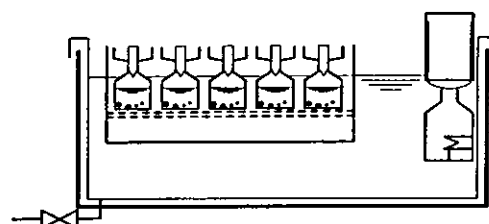


図3 吸着回分実験の概要

表2 活性炭による吸着バッチ実験の条件一覧

	活性炭粒径 (mm)	対象物質	初期濃度 (mg/L)	測定方法	活性炭量 (g/L)				採取時間 (hour)			
					0.2	0.8	3.8	18.6	5	17	43	61
Run 1	1.18~1.40	PFOS	50	TOC	0.2	0.8	3.8	18.6	5	17	43	61
		PFOA			0.2	0.8	3.9	19.4	5	17	43	61
PFOS		0.2			0.9	7.1	24.8	7	20	28	56	
PFOA		0.2			1.0	6.4	24.6	7	20	28	56	
Run 3	0.5~2.0	PFOS	1	LC/MS	0.4	1.5	5.0	32.3	4	10	24	48
PFOA		0.4			2.0	5.3	32.4	4	10	24	48	
PFOS		0.1			0.5	1.7	6.6	4	16	23	44	
PFOA		0.2			0.6	1.8	6.2	4	16	23	44	
Run 5		PFOS	50	TOC	0.2	1.1	6.5	21.3	4	23	47	71
PFOA		0.2			1.1	6.1	20.6	4	23	47	71	

振とう速度120rpm、温度25℃、pH7.0

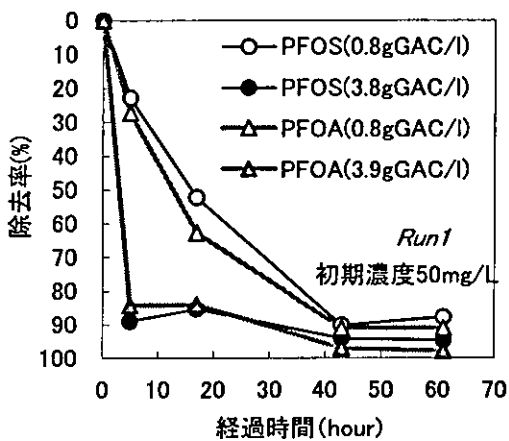


図4 活性炭添加後のPFOS、PFOA(初期濃度約50mg/L)濃度の経時変化(TOC計使用)

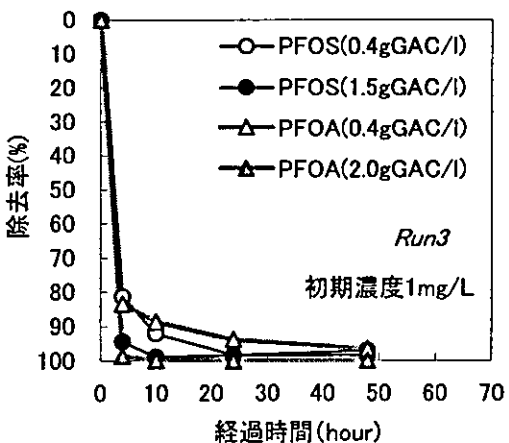


図5 活性炭添加後のPFOS、PFOA(初期濃度約1mg/L)濃度の経時変化(HPLC/MS使用)

を開始した。実験装置概要を図3に示す。BOD瓶は各Runで16本用意し、活性炭懸濁液添加量(mL)を変化させた4系列

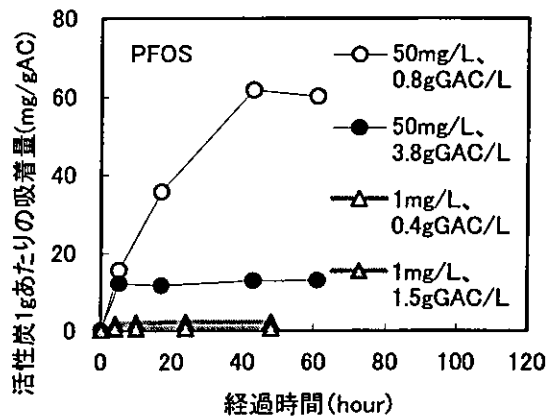


図6 活性炭1gあたりのPFOS吸着量の経時変化

各4本を作成した。なお、活性炭懸濁液はフルイ分け活性炭(Wako 030-02125を粉砕して作成)を精製水中に加え、それを吸引、脱気して懸濁状態としたものを用いた。振とう開始後、一定間隔ごとに試料を採取し、ろ過後、活性炭乾燥重量、ろ液のPFOS、PFOA濃度をHPLC/MS(UMA、TSQ7000)、TOC計(5000A SHIMADZU)で測定した。

実験条件を表2に示す。活性炭吸着試験物質(PFOS、PFOA)の初期濃度はRunごとに異なるが、振とう速度、温度、pHについては120 rpm、25 ± 0.1 °C、7.0で一定とした。また、各Runについてさらに4通りの活性炭投入量(0.1~32.4 g/L)およびサンプリング時間(4~71分)

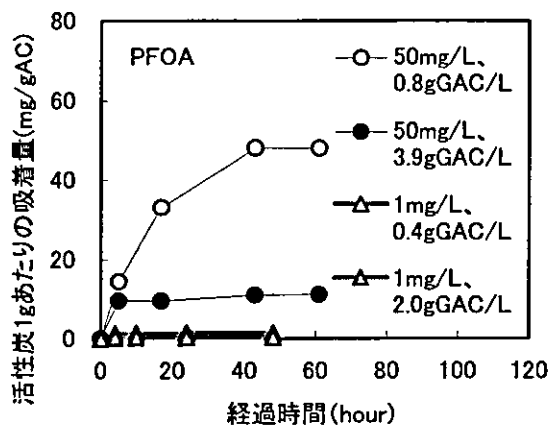


図7 活性炭1gあたりのPFOA吸着量の経時変化

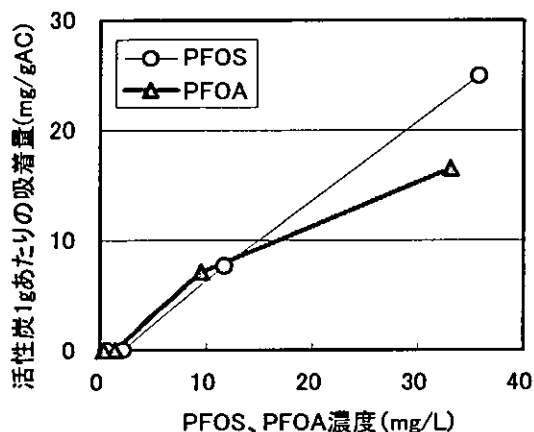


図8 活性炭添加後のPFOS,PFOA濃度と活性炭1gあたりの吸着量との関係 (17~24時間)

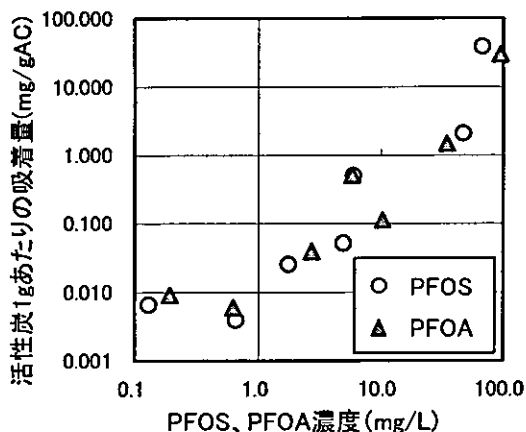


図9 活性炭添加後のPFOS,PFOA濃度と活性炭1gあたりの吸着量との関係

を設けた。

初期濃度約 50mg/L の PFOS、PFOA に関する Run1 の結果を図 4 に示す。活性炭を約 4g/L 添加した系では、PFOS、PFOA は振とう開始後 5 時間以内に 84%以上が活性炭に吸着した。一方、活性炭を約 0.8g/L 添加した系では、43 時間後に 90%以上が吸着し、吸着速度に違いが見られた。PFOS、PFOA 間の差はあまりなかった。

初期濃度約 1mg/L の PFOS、PFOA に関する Run3 の結果を図 5 に示す。活性炭を約 2g/L 添加した系では、PFOS、PFOA は振とう開始後 4 時間以内に 95%以上が活性炭に吸着した。一方、活性炭を約 0.8g/L 添加した系では、4 時間後に 81%以上、48 時間後には 97%以上が吸着し、吸着速度に違いが見られた。PFOS、PFOA 間の差はあまりなかった。

D. 考察

活性炭 1g あたりの PFOS、PFOA 吸着量を初期値 (設定) と濃度の差から求め、Run1 と Run3 を比較し図 6, 7 に示す。低濃度 (約 1mg/L) の PFOS、PFOA の吸着が短時間で生じた様子が確認できた。また、高濃度 (約 50mg/L) の PFOS、PFOA に対して少量の活性炭 (0.8g/L) を適用した場合、吸着に時間を要することが示された。

水中濃度と活性炭吸着量との関係 (吸着等温式) の一例を図 8 に示す。PFOS、PFOA 濃度が上昇すると、活性炭 1g あたりの吸着量も増加する傾向を示した。PFOS、PFOA 間の差はあまりなかった。

溶液中の吸着などにおいてよく実測値の整理式として用いられる単成分系吸着等温線の Freundlich 式 (以下) に、本データを適用した。

$$q = kc^{1/n}$$

ここで、 q :吸着量 (mg/gGAC)、 k :定数、 c :液相濃度 (mg/L)、 n :定数

同じ粒径の活性炭を使用した Run4、Run5 の結果 (接触時間 4~71 時間のデータ) をもとに PFOS、PFOA の吸着等温式を図9に示す。PFOS、PFOA ともに Freundlich 式への相関が高く、PFOS、PFOA の係数 k の値は、それぞれ 0.194、0.192 (mg/g) / (mg/L)^{1/n}、1/n の値は 1.30、1.38 となった。

E. 結論

本研究では、PFOS、PFOA の処理方法として吸着に着目し、その処理性の基本特性を低濃度レベルで検討した。LC/MS による PFOS、PFOA の定量方法を検討し、1~100 μ g/L での定量が可能となった。低濃度 PFOS、PFOA の吸着特性については、吸着材として活性炭を用いて回分実験により検討した。その結果、活性炭により PFOS、PFOA が短時間・高効率で吸着されることを見出した。ただし、本実験では共存物質の影響を考慮していないため、実施での導入のためには、有機物などの共存物添加時の吸着特性の検討、ろ過装置による連続実験等から、PFOS、PFOA の効率的な処理方法の開発を行う必要がある。現在は連続実験装置の運転を始動しており、今後は、有機物共存下での吸着効果の検討を行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

Yong QIU, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA, Akio KOIZUMI and Takeo YOSHINAGA, Adsorption Experiments of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctane Acid by Granular Activated Carbon, 瀬戸内海研究フォーラム, p. 28, 2004 年 9 月, 京都市国際交流会館

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし